

学位授与番号	甲第 1736 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 22 日
氏 名	光成 崇
学位論文題目	Clathrin Adaptor AP-2 Is Essential for Early Embryonal Development (クラスリン被覆小胞の構成成分である AP-2 複合体は、発生初期段階で重要な働きを司る)
論文審査委員	主 査 教 授 高倉 伸幸 副 査 教 授 佐藤 博 山本 博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

真核生物の細胞内には様々なオルガネラが存在し、その間で絶えず物質のやりとりが行われている。その中でも特に、膜タンパク質の選別輸送および選択的エンドサイトーシスは、細胞質側がクラスリンというタンパク質で覆われたオルガネラ膜領域がくびれ、クラスリン被覆小胞として出芽することによっておこる。

このクラスリン被覆小胞の主なコート成分として、アダプター (AP) 複合体ファミリーが存在する。その一つである AP-2 は、細胞膜からのクラスリン依存的エンドサイトーシスを制御することが知られている。本研究では、AP-2 の $\mu 2$ サブユニット欠損マウスの作製と解析を行い、その組織および個体レベルにおける機能解明を目指した。

ジーンターゲットイングの手法を用いて $\mu 2^{+/+}$ マウスを作製し、その交配により得られた F1 マウスおよび受精卵の遺伝子型を解析したところ、受精後 3.5 日胚において、すでに $\mu 2^{+/+}$ の受精卵は検出されなかった。このことから $\mu 2^{+/+}$ マウスは発生の極めて初期段階において胎生致死となることが示唆された。さらに、 $\mu 2^{+/+}$ マウスおよび野生型マウス由来の胚線維芽細胞を単離し、AP-2 の α および $\mu 2$ サブユニットのタンパク質発現量を比較したところ、両者とも $\mu 2^{+/+}$ マウスで減少していたものの統計学的有意差は認められなかった。また、これらの胚線維芽細胞を用いて、AP-2 依存的にエンドサイトーシスされることが知られている CD63 のエンドサイトーシスの速度を比較検討した結果、 $\mu 2^{+/+}$ マウスと野生型マウスの間に顕著な差は見られなかった。

これまで、培養細胞を用いたドミナントネガティブ変異体や RNAi によるノックダウン実験から、AP-2 は細胞の増殖や生存には必須ではないと考えられてきたが、これらの実験では AP-2 は完全には欠失していなかった。本研究により、AP-2 の $\mu 2$ 遺伝子は哺乳動物 (マウス) 細胞の生存に必須であることが明らかとなり、また個体の初期発生におけるエンドサイトーシスの重要性が示唆された。

以上、本研究は AP-2 依存的エンドサイトーシスの、初期発生における重要性を示した初めての論文であり、細胞生物学的にもきわめて重要な業績である。よって博士号に値すると評価された。